

## Ratio of neutrophil to lymphocyte counts — rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill

Záhorec R

### Pomer neutrofilov a lymfocytov — rýchly a jednoduchý ukazovateľ systémového zápalu a stresu v kritických stavoch

#### Abstract

Záhorec R:

Ratio of neutrophil to lymphocyte counts — rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill

Bratisl Lek Listy 2001; 102 (1): 5–14

**Background:** For many years, the intensivists are searching for an easily measurable and available parameter which might reflect the intensity of stress and/or systemic inflammation in critically ill patients following shock, multiple trauma, major surgery or sepsis. Recently, some authors have described the onset of significant lymphocytopenia after polytrauma, major surgery, endotoxaemia and sepsis. We investigate whether serial examination of white blood cell counts may reflect and clarify the immune response to stressful events in critically ill patients.

**Goal:** We have designed a prospective longitudinal observational study to investigate serial changes in circulating neutrophil and lymphocyte counts following major surgery, unscheduled surgery and sepsis.

**Methods:** We have investigated the differential white blood cell counts and the clinical course in 90 oncological ICU patients. We compared three groups: group A consisting of 62 patients who underwent scheduled colorectal surgery, group B consisting of 18 patients who underwent unscheduled surgery for abdominal sepsis, group C consisting of 10 medical ICU patients who were treated for severe sepsis and septic shock. The severity of clinical course was expressed by means of SOFA score (group A 0.3—1—1.3 point, group B 2.2—2.9—2.6 point, group C 7.4—8.3—7.7 point) and APACHE II score (group A 3.7—7.6—8.1 point, group B 8.6—11.1—10.5 point, group C 16.3—15.2—14.3 point). Differential white blood cell counts were investigated on blood cell counter SYSMEX SF 3000 in 4 consecutive periods: 1 day one before surgery, 0 the day of surgery or ICU admittance,

#### Abstrakt

Záhorec R.:

Pomer neutrofilov a lymfocytov — rýchly a jednoduchý ukazovateľ systémového zápalu a stresu u pacientov v kritických stavoch

Bratisl. lek. Listy, 102, 2001, č. 1, s. 5–14

**Pozadie problému:** Mnoho rokov sa hľadá jednoduchý a dostupný parameter, ktorý by odrážal mieru stresu v kritických stavoch, resp. mieru zápalovej odpovede organizmu na kritický stav (šok, traumy, veľký chirurgický výkon, sepsu). Nedávno viacerí autori opísali vznik významnej lymfocytopenie po traume, chirurgických výkonoch, sepsu a endotoxémii. Ukazuje sa, že sériové vyšetrenia diferencovaného obrazu bielych krviniek môžu veľmi jednoducho a spoľahlivo informovať o dynamike a závažnosti stresu a kritického stavu pacientov.

**Ciele:** Navrhli sme prospektívnu pozorovaciu pilotnú štúdiu so zámerom sledovania zmien absolútneho i relatívneho (%) počtu bielych krviniek v perioperačnom období ako reakciu cirkulujúcich leukocytov na operačný stres. Ďalej sme sledovali dynamiku zmien počtu bielych krviniek u pacientov s komplikovaným priebehom alebo abdominálnou sepsou a u pacientov v septickom stave.

**Metódy:** V klinickej štúdiu sme sledovali klinický stav a diferencovaný obraz neutrofilov a lymfocytov u 90 onkologických pacientov v intenzívnej starostlivosti. Porovnali sme 3 skupiny pacientov: skupina A 62 pacientov podstúpilo elektívny kolorektálny chirurgický výkon, skupina B 18 pacientov podstúpilo urgentný výkon kvôli abdominálnej infekcii alebo sepsu, skupina C 10 nechirurgických pacientov s diagnózou závažnej sepsy a septického šoku. Závažnosť klinického stavu sme vyjadrili pomocou SOFA skóre (skupina A 0,3—1—1,3 bodu, skupina B 2,2—2,9—2,6 bodu, skupina C 7,4—8,3—7,7 bodu) a APACHE II skóre (skupina A 3,7—7,6—8,1 bodu, skupina B 8,6—11,1—10,5 bodu, skupina C 16,3—15,2—14,8 bodu). Di-

Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, St. Elizabeth Cancer Institute, Bratislava. [zahorec@ousa.sk](mailto:zahorec@ousa.sk)

**Address for correspondence:** R. Záhorec, MD, PhD, Dpt. of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Heydukova 10, SK-812 50 Bratislava 1, Slovakia.

Phone: +421.7.5294 9551, Fax: +421.7.5292 3711

Oddelenie anestéziológie a intenzívnej medicíny Onkologického ústavu sv. Alžbety v Bratislave

**Adresa:** MUDr. R. Záhorec, CSc., Onkologický ústav Sv. Alžbety, Heydukova 10, 812 50 Bratislava.

1 day one after surgery (or the 1st ICU day), 2nd day following surgery (or the 2nd ICU day). The measured values of neutrophils and lymphocytes were expressed as relative counts (%) of the whole all white blood cell population.

**Results:** The physiologic response of circulating leukocytes to surgical stress in group A is characterized by the onset of marked neutrophilia (62.5 % before surgery up to 84.4 % after surgery) and significant lymphocytopenia (28.1 % before surgery to 10.3 % following surgery). We observed a slow decline in neutrophil counts and an increase in lymphocyte counts since the 1st postoperative day. The patients with abdominal infection (group B) had elevated counts of neutrophils already before surgery (83.2 %) and low values of lymphocyte counts (9.5 %). A further increase in neutrophil counts (89.9 %) and marked lymphopenia (7 %) were recorded during the post-surgical period in group B. Critically ill patients with severe sepsis or septic shock (group C) had significantly highest values of neutrophil relative counts (94%—93.1%—92.5%,  $p < 0.05$  against group A) and marked lowest values of lymphocyte counts (3.8%—4%—3.7%,  $p < 0.05$  against group A). The severity of clinical course (according SOFA and APACHE II score) correlated with the divergence of neutrophil and lymphocyte counts in the white blood picture (marked neutrophilia and lymphocytopenia).

**Conclusion:** In the population of 90 ICU oncological patients, we observed rapid serial changes in white blood cell populations, as a response of the immune system to surgical stress, systemic inflammation or sepsis. Preliminary results show the correlation between the severity of clinical course and the grade of neutrophilia and lymphocytopenia. The ratio of neutrophil and lymphocyte counts (in absolute and/or relative % values) is an easily measurable parameter which may express the severity of affliction. We suggest the term: neutrophil-lymphocyte stress factor, as a ratio of neutrophil to lymphocyte counts, which can be routinely used in clinical ICU practice in intervals of 6—12 and 24 hours. The prognostic value of neutrophil-lymphocyte stress factor should be evaluated in further studies. (Tab. 6, Fig. 5, Ref. 12.)

**Key words:** lymphocytopenia, neutrophilia, surgical stress, sepsis, neutrophil-lymphocyte stress factor.

The systemic response to the affliction by multiple trauma, major surgery, shock states, burns, severe infection or ischemia — reperfusion injury is regulated by neuroendocrine and innate immune response, mediated by cellular and humoral immunity.

The events that lead to the inflammatory response are characterized by the recognition of the site of injury by inflammatory cells, specific recruitment of subpopulation of leukocytes into the tissue, and removal of the offending agent. Intensivists are searching for easily measurable and available parameters which might reflect the intensity of stress and systemic inflammation in critically ill patients following shock, multiple trauma, major surgery or sepsis (Rainer et al., 1999).

The systemic inflammation is characterized by fever, leukocytosis, and increased serum levels of acute phase proteins: C-reactive protein, serum amyloid A, fibrinogen and CD14 binding protein. The parameters of severe bacterial infection and systemic inflammation involve serum procalcitonin (Setvak and Zahorec, 2000), and neopterin — marker of viral infection and cellular immune response mediated by interferon-gamma (Zahorec et al., 2000).

ferencovaný krvný obraz sme vyšetřovali v 4 obdobiach: 1 deň pred výkonom, 0—2 hodiny po chirurgickom výkone, 1. pooperačný deň, 2. pooperačný deň ráno o 8. h na automate SYSMEX SF 3000.

**Výsledky:** Zistili sme, že fyziologická odpoveď cirkulujúcich leukocytov na chirurgický stres (skupina A) sa prejaví vývojom významnej neutrofilie (zo 62,5 % na 84,4 %) a lymfocytopenie (z 28,1 % na 10,3 %) v prvých hodinách po skončení operačného výkonu. Od 1. pooperačného dňa pozorujeme pokles neutrofilov a vzostup populácie lymfocytov. Pacienti s abnormálnou infekciou (B) mali už predoperačne vysoké hodnoty počtu neutrofilov (83,2 %) a nízke hodnoty lymfocytov (9,5 %), v pooperačnom období sme pozorovali ďalší vzostup neutrofilov (na 89,9 %) a pokles lymfocytov na 7 % v priemere. Pacienti v kritickom stave s ťažkou sepsou alebo v septickom šoku (C) mali významne najvyššie relatívne počty neutrofilov v celom období (94%—93,1%—92,5%,  $p < 0,05$  oproti skupine A) a najnižšie počty lymfocytov (3,8%—4%—3,7%,  $p < 0,05$  oproti skupine A). Závažnosť klinického stavu (podľa SOFA a APACHE II skóre) korelovala s divergenciou počtu neutrofilov a lymfocytov v bielom krvnom obraze (neutrofilia a lymfocytopenia).

**Záver:** Pilotná observačná štúdia na súbore 90 onkologických pacientov potvrdila rýchly vývoj zmien v populácii bielych krviniek ako odpoveď imunitného systému na chirurgický stres, systémový zápal alebo sepsu. Predbežné výsledky ukazujú na súvislosť medzi závažnosťou klinického stavu a mierou neutrofilie a lymfocytopenie. Pomer neutrofilov a lymfocytov (v absolútnych i relatívnych počtoch) jednoducho a spoľahlivo vystihuje mieru závažnosti stresu a systémového zápalu. Navrhnutý pomer neutrofilov a lymfocytov sme označili ako neutrofil-lymfocytový stresový faktor, ktorý môžeme vyšetřovať rutinne v 6—12-hodinových alebo 24-hodinových intervaloch. (Tab. 6, obr. 5, lit. 12.)

**Kľúčové slová:** lymfocytopenia, neutrofilia, operačný stres, sepsa, neutrofil-lymfocytový stresový faktor.

Systémová odpoveď organizmu na kritický stav (polytrauma, chirurgický výkon, šokové stavy, ischemicko-reperfúzný syndróm, popálenie) sa prejaví neuroendokrinnou odpoveďou — neuroendokrinným stresom a reakciou imunitného systému, jeho celulárnej a humorálnej zložky (cytokíny, interleukíny a chemokíny).

Zápal ako zložitý komplexný reparačný mechanizmus, ktorým sa organizmus bráni voči infekciám, poraneniu a poškodeniu tkanív, sa vyskytuje u väčšiny pacientov v intenzívnej starostlivosti. Odborníci v intenzívnej medicíne dlho hľadajú jednoduchý, ľahko dostupný a spoľahlivý laboratórny parameter miery zápalu a stresu, ktorý by sa dal klinicky využiť ako ukazovateľ stupňa závažnosti ochorenia a prognózy pacienta.

Z laboratórnych parametrov sa sleduje dynamika bielych krviniek — leukocytóza, sérové hladiny zápalových proteínov akútnej fázy: C-reaktívneho proteínu, sérového amyloidu A a alfa<sub>1</sub>-glykoproteínu. Z novších parametrov sa v intenzívnej medicíne na diagnostiku bakteriálneho a mykotického zápalu využíva zápalový marker prokalcitonín (Setvak a spol., 2000), na nešpecifickú diagnostiku vírusových infekcií a aktivitu bunkovej imunity je vhodný sérový neopterin (Záhorec a spol., 2000).

Immuno-competent white blood cell populations: monocytes, lymphocytes and neutrophils play a crucial role in the systemic inflammatory response to the severe infection, injury, polytrauma and shock. Recently, a general immune response to endotoxaemia has been described by an increased number of circulating neutrophils and decreased counts of lymphocytes (Jilma et al., 1999). The differential white blood cell counts are an easily measurable, available and reliable parameter which can be used as a severity index of sepsis (systemic inflammatory) immune response. We attract the attention to the relationship between neutrophil and lymphocyte counts in peripheral blood of patients after major surgery, systemic inflammatory response syndrome — SIRS and sepsis.

#### **Lymphocytopenia and neutrophilia — a physiological response of innate immune system to the systemic inflammation, injury and stress**

Lymphocytopenia — a significant decrease in circulating lymphocyte count after severe trauma, major surgery, severe sepsis and systemic inflammation has been described by many authors (O'Mahony, 1984; Dionigi et al., 1994; Jilma et al., 1999). O'Mahony (1984) detected marked lymphopenia following multiple trauma and described it as cellular immunosuppression which may lead to the development of the systemic inflammatory response syndrome. Menges et al. (1999) investigated serial changes in the lymphocyte population in patients after severe trauma by means of flow cytometry. They described a marked decrease in T-lymphocytes. The depression of innate cellular immunity was characterized by the persistent decline of T-4 helper lymphocytes and elevation of T-8 suppressor lymphocytes (CD8). T-4/T-8 lymphocyte cell ratio less than 1 is a good predictor of immunosuppression and high risk of the development of SIRS, and multiple organ failure (Menges et al., 1999). Lymphocytopenia has developed within 6 hours following major surgery and lasted 2—7 days due to the severity of surgical procedure. The decline in lymphocyte count following laparoscopic cholecystectomy was less profound and lasted for a shorter period than the severe lymphocytopenia following open cholecystectomy (Dionigi et al., 1994).

Typical changes in differential white blood cell counts during human endotoxaemia were observed by Jilma et al. (1999). Each of the healthy volunteers received 4 ng/kg of lipopolysaccharid served as a model of human endotoxaemia. Serial changes in circulating neutrophils, monocytes and lymphocytes as well as in plasmatic levels of circulating adhesion molecules were investigated. Circulating lymphocytes dropped by -85 % after 4—6 hours following endotoxaemia, monocytes dropped by -96 % after 90 minutes, and neutrophils increased by +300 % (Jilma et al., 1999).

The causes of lymphocytopenia as the marker of a depressed cell-mediated immunity, have been extensively studied (Tab. 1). The mechanisms responsible for lymphopenia involve margination and redistribution of lymphocytes within the lymphatic system and marked accelerated apoptosis (Ayala et al., 1996; Hotchkiss et al., 1999).

Neutrophilia the opposite phenomenon during systemic inflammation, is caused by demargination of neutrophils, delayed apoptosis of neutrophils, and stimulation of stem cells by growing factors (G-CSF).

V zápalovej odpovedi na poškodenie tkanív, infekciu a traumy majú rozhodujúcu úlohu imunokompetentné populácie bielych krviniek: granulocyty, lymfocyty a monocyty/makrofágy. Imunitná reakcia organizmu na infekciu a poškodenie sa prejaví v kvalitatívnych a kvantitatívnych zmenách počtu cirkulujúcich populácií leukocytov, predovšetkým zvýšením počtu neutrofilných granulocytov a znížením počtu cirkulujúcich lymfocytov (Jilma a spol., 1999).

V súčasnosti, keď hematologické laboratória rutinne vyšetrujú diferencovaný krvný obraz, je pre odborníkov v intenzívnej medicíne ľahko dostupný a spoľahlivý diferencovaný obraz bielych krviniek, predovšetkým vzájomný pomer neutrofilov, lymfocytov a monocytov v cirkulujúcej periférnej krvi.

#### **Lymfocytopenia a neutrofilia – fyziologická odpoveď imunitného systému na systémový zápal a stres**

Lymfocytopeniu — zníženie počtu cirkulujúcich lymfocytov v krvi po ťažkej traume, veľkých operačných výkonoch, systémovej infekcii a sepe opísali nezávisle viacerí autori. O'Mahony (1984) zníženie počtu lymfocytov po polytraume označil za prejav depresie bunkovej imunity, ktorá môže neskôr viesť k rozvoju systémovej zápalovej odpovede (SIRS). Menges a spol. (1999) sledovali zmeny počtu subpopulácií lymfocytov u pacientov po ťažkej polytraume pomocou prietokovej cytometrie. Zistili, že najvýznamnejšie klesajú hodnoty T-lymfocytov, z nich najmä T-4 pomocné lymfocyty (CD4), menej supresorové T-8 lymfocyty (CD8). Viac dní trvajúce zníženie pomeru T4/T8 lymfocytov (CD4:CD8 menej ako 1) u polytraumatických pacientov viedlo k zvýšenému výskytu SIRS a multiorgánovej dysfunkcii (Menges a spol., 1999).

Lymfocytopenia po chirurgických výkonoch sa vyskytuje 2—7 dní podľa rozsahu a závažnosti chirurgického výkonu. Menej závažné — laparoskopické výkony oproti otvorenej cholecystektómii sa prejavili signifikantne nižším poklesom lymfocytov v krvnom obraze 1. pooperačný deň (Dionigi a spol., 1994).

Charakteristické zmeny v diferencovanom krvnom obraze bielych krviniek pri septickom syndróme na modeli ľudskej endotoxémie pozorovali Jilma a spol. (1999). Po vnútrožilovej aplikácii 4 ng/kg lipopolysaccharidu (endotoxínu) 30 dobrovoľníkom v hodinových intervaloch sledovali zmeny v počte populácií bielych krviniek a cirkulujúce adhezívne molekuly. Po počiatocnom poklese neutrofilov do 4—8 hodín nastal významný vzostup ich počtu — neutrofilia. Monocytopenia dosiahla minimum medzi 1. až 2. hodinou po vpravení endotoxínu. Hodnoty lymfocytov klesli až o 85 % po 4 hodinách a pokles pretrvával prvých 8 hodín. Z adhezívnych molekúl bol najvýznamnejší až 8-násobný vzostup cirkulujúceho E-selektínu (Jilma a spol., 1999). Klinicko-laboratorne dôkazy o vzniku lymfocytopenie pri rôznych patologických stavoch sú v tabuľke 1.

Príčiny vzniku lymfocytopenie, a tým i depresie bunkovej imunity po primárnom inzulte, sa intenzívne skúmajú. K možným príčinám patrí najmä akcelerácia apoptózy a vplyv vysokej hladiny kortizolu. Ostatné mechanizmy sú uvedené v tabuľke 1.

Neutrofilia vzniká demargináciou neutrofilných granulocytov zo steny ciev, mobilizáciou z depot retikuloendotelového systému, neskôr stimuláciou kmeňových buniek kostnej drene rastovými faktormi a oddialením apoptózy.

**Tab. 1. Clinical occurrence and causes of lymphocytopenia.**  
**Tab. 1. Klinický výskyt a príčiny lymfocytopenie.**

Occurrence and	causes of lymphocytopenia	Authors
Multiple trauma	neuroendocrine stress and tissue injury changes in T4/T8 lymphocytes	Rainer 1999 Menges 1999
Major surgery	neuroendocrine stress: cortisol, prolaktin	Dionigi 1994
Septic syndrome	margination, apoptosis: TNF-alfa, caspase-3	Ayala 1996 Hotchkiss 1999
Myocardial infarction	ischemia-reperfusion injury	Zahorec 2000
Acute pancreatitis	pro-inflammatory cytokines	

**Tab. 2. Demographic data of 90 ICU oncological patients.**  
**Tab. 2. Demografické údaje 90 ARO onkologických pacientov.**

Group	Pts	Age	ASA	Mortality	p
Skupina	Pacienti	Vek		Mortalita	%
A	62	26-88 yrs	I.-6,II.-41,III.-15	1 pt.	1,6
B	18	39-73 yrs	II.-4,III.-11,IV.-3	2 pt.	11
C	10	47-85 yrs	III.-5,IV.-5	5 pt.	50

#### Goals of pivotal observational study, design and methods

*Goals.* We designed a prospective observational study to follow-up the serial changes in circulating neutrophil and lymphocyte counts within peripheral blood of ICU oncological patients following major surgery, SIRS and sepsis.

90 ICU oncological patients who underwent abdominal colorectal surgery or sustained severe sepsis syndrome were divided into three groups: group A consisted of 62 patients who underwent elective colorectal resection surgery, group B included 18 patients who underwent an urgent surgery due to abdominal sepsis, and group C involved 10 medical patients who suffered from severe sepsis or septic shock. Demographic data are summarized in Table 2.

*Protocol.* Blood samples for differential white blood cell counts were taken a day before surgery (sample -1), on the day of surgery, 2 hours after surgical procedure or after ICU admittance (sample 0), and two consecutive post-operative days (samples 1, 2). At the same time we measured inflammatory markers: procalcitonin, neopterin, and C-reactive protein. The clinical outcome was evaluated by means of score systems: APACHE II and SOFA score.

This clinical prospective study did not use any invasive procedures, and it was approved by the Institute of Ethical Committee.

*Methods.* Total blood count and differential white blood cell counts were measured using SYSMEX SF 3000 (Japan) automatic cell counter. Flagged results were checked by manual differential counts on stained blood smears. The measured values of neutrophil and lymphocyte counts at arbitrary time points were collected using a PC program Excel. The statistical significant level of  $p < 0.05$  was set for all data. Average values of neutrophil and lymphocyte counts in each group were expressed as a median (or arithmetic average value) with 25 % and 75 % percentil borders.

#### Ciele pilotnej štúdie, klinický protokol a metodika

Cieľom prospektívnej pilotnej štúdie bolo sledovanie dynamiky zmien v počte cirkulujúcich leukocytov: neutrofilných granulocytov a lymfocytov u onkologických pacientov počas hospitalizácie na oddelení intenzívnej medicíny. Do súboru boli zaradení pacienti, ktorí podstúpili veľké abdominálne výkony: onkochirurgické alebo gynekologické, ktoré boli plánované (skupina A 62 pacientov), ďalej pacienti indikovaní na urgentný chirurgický výkon z dôvodu abdominálnej sepsy, črevnej nepriechodnosti, perforácie čreva (skupina B 18 pacientov) a nechirurgickí pacienti, ktorí boli prijatí na ARO s diagnózou septického syndrómu (skupina C 10 pacienti). Do štúdie, ktorá trvala 12 mesiacov, bolo zaradených celkovo 90 pacientov (tab. 2).

*Klinický protokol:* Krvné vzorky na vyšetrenie diferencovaného krvného obrazu u sledovaných 90 onkologických sa odoberali 1 deň pred výkonom (vzorka -1), v deň operačného výkonu približne 2 hodiny po skončení operácie (vzorka 0), neskôr v pooperačnom období 1., 2. a 3. pooperačný deň vždy o 8. h (vzorky 1, 2, 3). Súčasne sme sledovali celkový klinický stav, krvný obraz, biochemický profil, zápalové markery: prokalcitonín, neopterin, C-reaktívny proteín. Klinický stav sme hodnotili pomocou skórovacích systémov: APACHE II a SOFA.

Klinická pilotná štúdia nevyžadovala žiadne invazívne procedúry na pacientoch a neboli porušené kritériá Helsinskej deklarácie pre klinické štúdie.

*Metodika:* diferencovaný krvný obraz bielych krviniek sa vykonával štandardne na automate SYSMEX SF 3000 (Japonsko) na oddelení hematológie. V prípade nejasnosti sa vykonával diferencovaný KO priamo mikroskopicky. Namerané hodnoty sme vyhodnotili štatisticky programom Excell a vyjadrili ako priemer alebo medián s 25—75 % percentilovým ohraničením.

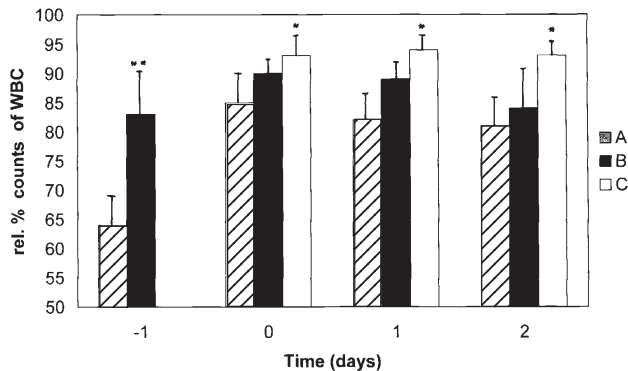


Fig. 1. Serial changes in neutrophil counts (average values of relat. % of all white blood cells) in ICU patients following scheduled abdominal surgery (group A), unscheduled surgery (group B), severe sepsis (group C) in 4 consecutive ICU days. \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$  when compared with control group A.

Obr. 1. Sériové zmeny relatívneho počtu neutrofilných granulocytov (aritmetický priemer v % z celkového počtu leukocytov) u pacientov po elektívnom brušnom chirurgickom výkone (skupina A), po urgentnom chirurgickom výkone (skupina B), počas ťažkej sepsy (skupina C) v období 4 dní intenzívnej starostlivosti. \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$  v porovnaní s kontrolnou skupinou A.

## Results

90 ICU oncological patients were recruited into 3 study groups (A, B, C) according to clinical severity. The clinical outcome and the severity of clinical ICU course were expressed by scoring systems: APACHE II and SOFA (Tab. 3). The patients with abdominal sepsis and a complicated postsurgical period (group B) had a significantly higher APACHE II and SOFA scores against the control group A. 10 medical patients with severe sepsis and septic shock (group C) had highest values of APACHE II and SOFA scores (see Tab. 3).

Serial changes in neutrophil counts in patients following abdominal surgery, emergency surgery or septic shock were expressed as a median and 25—75 % percentil for all three groups (Tab. 4). The measured values of neutrophils (Fig. 1) show the gradual increase in neutrophil population following the stressful event as surgery abdominal sepsis and septic shock. Peak values of neutrophil counts were recorded at the end of the day of surgery, or on the 1st postoperative day (Fig. 1).

## Výsledky

Súbor 90 onkologických pacientov sme zatriedili podľa priebehu do 3 skupín. Skupiny A, B, C sa odlišovali závažnosťou klinického stavu a klinickým priebehom, čo vyjadrujú skórovacie systémy SOFA a APACHE II (tab. 3). Skupina B s komplikovaným pooperačným priebehom (ileózne stavy s perforáciou, peritonitis a abdominálna sepsa) sa vyznačovali signifikantne vyšším SOFA skóre a APACHE II skóre v celom priebehu hospitalizácie na oddelení intenzívnej medicíny, oproti kontrolnej skupine A s hladkým nekomplikovaným priebehom. Podobne skupina C 10 nechirurgických onkologických pacientov so septickým syndrómom rôzneho stupňa mala významne vyššie hodnoty SOFA a APACHE II skóre od doby prijatia na ARO.

Percentuálne hodnoty neutrofilných granulocytov sme vyjadrili ako aritmetický priemer aj ako strednú hodnotu medián, ohraničenú 25—75 % percentilom hodnôt celého súboru pre všetky 3 sledované skupiny (tab. 4). Získané hodnoty graficky znázornené na obrázku 1 poukazujú na dynamiku vzostupu zastúpenia neutrofilov v ce-

Tab. 3. Clinical severity of critical and post-operative patients by means of APACHE II and SOFA score in 3 groups: A, B, C.

Tab. 3. Sledovanie závažnosti kritických a pooperačných stavov pomocou APACHE II a SOFA skóre v 3 skupinách intenzívnych pacientov.

Sample	-1	-1	0	0	1	1	2	2
Group	SOFA	Apache	SOFA	Apache	SOFA	Apache	SOFA	Apache
A 62 p	0,3	3,74	1,04	7,63	1,29	8,15	1,18	7,1
B 18 p	2,16*	8,61*	2,88*	11,11*	2,57*	10,5*	2,16*	10,2
C 10 p			7,41**	16,3**	8,27**	15,2**	7,66**	15,1*

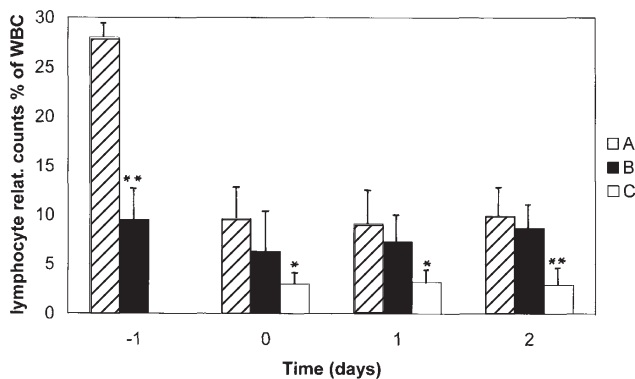
Štatistická významnosť \*  $p < 0,05$  a \*\*  $p < 0,01$  oproti kontrolnej skupine A

Tab. 4. Average values of circulating neutrophils in relative % of all WBC.

Tab. 4. Priemerné hodnoty cirkulujúcich neutrofilov v relat. % z celkového počtu bielych krviniek v denne odoberaných vzorkách -1,0,1,2 v 3 skupinách pacientov.

Neutr./Sample % group	-1			0			1			2		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
75% percentil	68,7	90,6	-	90	92	96,6	87	92,5	95	85,7	91	95
Medián	64	83**	-	85	90	93*	82	89	94*	81	84	93**
Average arit.	62,5	83**	-	84	89	94*	79	88	93*	80	82	92**
25 % percentil	57	80,6	-	81	85	92	83	84,6	92	76	85,5	92

Štatistická významnosť \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  oproti kontrolnej skupine A.



**Fig. 2.** Serial changes in lymphocyte counts (average values of relat. % of all WBC) in ICU patients following scheduled surgery (control group A), urgent surgery (group B), and severe sepsis (group C) in 4 consecutive ICU days. \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$  when compared with control group A.

**Obr. 2.** Sériové zmeny relatívneho počtu lymfocytov (priemerné hodnoty vyjadrené v % z celkového počtu leukocytov) u pacientov po plánovanom chirurgickom výkone (skupina A), po urgentnom chirurgickom výkone (skupina B) a počas ťažkej sepsy (skupina C) v období 4 dní intenzívnej starostlivosti. \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$  v porovnaní s kontrolnou skupinou A.

The serial changes in lymphocyte counts were expressed as a % value of all white blood cells. Average values of relative % lymphocyte counts during ICU stay were summarized on Table 5. The dynamic changes in lymphocyte counts in 3 groups of ICU patients are shown in Figure 2. We recorded a significant decrease in lymphocyte counts in all groups of ICU patients. The lowest values of lymphocyte counts were observed in the most severe group C, in patients with severe sepsis syndrome or septic shock.

In group A (62 patients), we recorded a significant decline in lymphocyte counts from 28.2 % of all WBC one day before surgery, to 9.7 % of all WBC on the day of surgery. Lymphocytopenia sustained for 2–3 postoperative days. We observed that the improvement of clinical status coincides with an increase in lymphocyte counts above 10 % of the WBC population.

In group B (18 patients), we observed that the patients with abdominal sepsis, systemic infection or peritonitis, had very low values of circulating lymphocytes already pre-operatively (sample — 1:9.5 %), and high values of neutrophils (83.1 %).

In the most severe group C (10 medical septic patients), we recorded the highest values of neutrophil counts, and lowest values of lymphocyte counts (mortality rate 50 %). The severity of clinical course of the sepsis syndrome is documented by marked elevation of inflammatory markers (C-reactive protein serum concentration higher than 50 mg/l, serum neopterin more than 20 nmol/l, and serum procalcitonin higher than 5.0 ng/ml). Differential white blood cell count was a good predictor of the clinical severity of sepsis syndrome: we observed a marked neutrophilia (samples 0 and 1 — neutrophil counts exceeded 93 % of all WBC), and a dra-

lej populácii cirkulujúcich bielych krviniek. Vrchol neutrofilie v skupine A, B sme pozorovali v operačný, resp. 1. pooperačný deň.

Z nameraných hodnôt lymfocytov v percentách z celkového počtu bielych krviniek v jednotlivých vzorkách sme vypočítali aritmetický priemer, strednú hodnotu — medián ohraničené 25–75 % percentilom pre skupiny A, B, C (tab. 5). Dynamiku zmien populácie cirkulujúcich lymfocytov po plánovanom (A), resp. urgentnom chirurgickom výkone (B), alebo u pacientov so septickým syndrómom (skupina C) sú znázornené na obrázku 2. Na obrázku zreteľne vystupuje do popredia pokles absolútneho i relatívneho počtu lymfocytov v rámci populácie cirkulujúcich bielych krviniek. V skupine plánovaných chirurgických výkonoch (A — 62 pacientov, ktorí podstúpili kolorektálne resektčné výkony) je zreteľný dramatický pokles lymfocytov z predoperačných hodnôt 28,3 % na 9,65 % (medián) v operačný deň asi 2 hodiny po skončení výkonu, pričom lymfocytopenia sa udržovala 3 pooperačné dni.

Ďalej sme pozorovali u pacientov skupiny B s náhlou príhodou brušnou (ileus, peritonitis) už predoperačne (vzorka -1) významne zvýšené hodnoty neutrofilov na 83,1 % a významne znížené hodnoty lymfocytov 9,54 % ako medián i priemer. Naše klinické pozorovania potvrdili, že u nechirurgických pacientov diferenciálny obraz bielych krviniek (neutrofilia nad 82 % a lymfocytopenia pod 10 %) v absolútnych i relatívnych číslach je spoľahlivou laboratórnou pomôckou v diagnostike závažných zápalových ochorení.

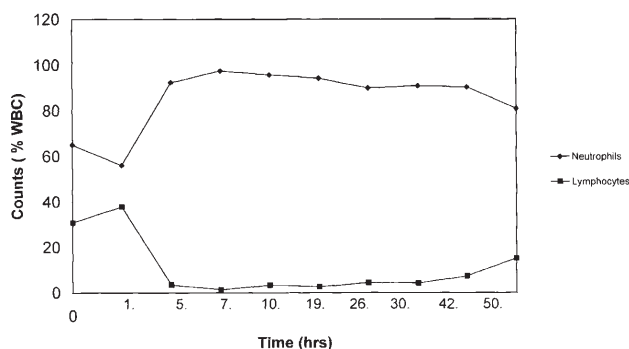
Najzávažnejší vzostup neutrofilov a pokles lymfocytov sme pozorovali v skupine C s najťažším, často kritickým priebehom septického syndrómu (z 10 pacientov 6 prípadov ťažkého septického šoku a hospitalizačnou mortalitou 5 pacientov — 50 %).

**Tab. 5.** Relative values of circulating lymphocytes in % of all WBC during the follow-up period of 4 consecutive days in 3 groups.

**Tab. 5.** Relatívne hodnoty cirkulujúcich lymfocytov v % z celkového počtu bielych krviniek v sledovanom období 4 dní (-1,0,1,2) v 3 skupinách pacientov.

Lymf./Sample % group	-1			0			1			2		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
75 % percentil	33	12,7*	—	12,7	10,7	3,9	12,6	10	3,9	12,7	11	4,6
Medián %	28	9,5*	—	9,6	6,3	3*	9,1	7,3	3,2*	9,9	8,7	2,9*
Aritm.average	28	9,5*	—	10,3	7,0	3,8	9,6	7,3	4,0*	10,4	9,2	3,7
25% percentil	21	6,4*	—	6,4	3,8	2,1	6,3	4,4	2,8	6,9	7,3	2,3

Štatistická významnosť \*  $p < 0,05$  a \*\*  $p < 0,01$  oproti kontrolnej skupine A.



**Fig. 3. Time course of neutrophil and lymphocyte counts (relat. % of WBC) in a patient following cardiac arrest and prolonged cardiopulmonary resuscitation (time 0) in hours.**

**Obr. 3. Časový priebeh relatívneho počtu neutrofilov a lymfocytov (v % počtu leukocytov) u pacienta po asystólii a následnej kardiopulmonálnej resuscitácii (čas 0).**

matic lymphocytopenia (samples 0 and 1 — lymphocyte counts were lower than 4.2 % of all WBC).

The recorded lymphocytopenia in most critical patients with severe sepsis (group C) was significantly lower than lymphocytopenia in the control group A (Tab. 4, Fig. 2).

The prospective clinical study and laboratory monitoring of 90 ICU oncological patients during their ICU stay illustrates that the differential white blood cell count is a simple, available and reliable method of how to the severity of surgical stress, systemic inflammation and sepsis syndrome. We observed marked neutrophilia and lymphocytopenia following myocardial infarction (Zahorec et al., 2000), acute pancreatitis, multiple severe trauma (see Fig. 3 and 4,5). We conclude that marked neutrophilia (more than 82 %) and lymphocytopenia (less than 10 % of all WBC) are a general innate immune response to various stressful events.

We also found out that the improvement of the clinical status following major surgery, severe infection, systemic inflammation, sepsis, injury or trauma coincides with a gradual increase in lymphocyte counts (more than  $1.000/\text{mm}^3$  or higher than 10 % of WBC population) and concomitant decrease in neutrophil counts (less than  $8.000/\text{mm}^3$  or less than 80 % of WBC). The persistency of neutrophilia (more than 90 %) and sustained lymphocytopenia (less than 5 % of WBC, or less than  $500/\text{mm}^3$ ) lasting more than 5—7 days may lead to further complications e.g. to the development of multiple organ dysfunction syndrome.

We observed lymphocytopenia in 89 patients following major surgery, abdominal sepsis and septic shock. Only 1 patient from group A did not develop lymphocytopenia following surgery: relative values of lymphocyte counts were higher than 30 % and lymphocyte counts in absolute values ranged between  $2.500$ — $4.700/\text{mm}^3$ . It is interesting that only this patient from group A died on the 6th postoperative day.

## Discussion

The design of the prospective observational study was mostly stimulated by the paper of Gilma et al. (1999), who very clearly demonstrated the serial changes of circulating neutrophils, monocytes and lymphocytes in peripheral blood, following and during experimental endotoxaemia. Administration of lipopolysaccharid to human volunteers induced typical changes in their WBC populations developing within 2—4—6 hours: monocytopenia, lymphocytopenia and neutrophilia (Gilma et al., 1999).

Závažnosť stavu, okrem zápalových markerov (CRP nad 50 mg/l, neopterin nad 20 nmol/l a prokalcitonín nad 2,0 ng/ml), dobre odrážali vysoké relatívne hodnoty neutrofilných granulocytov prvé dva dni hospitalizácie (vzorka 0 a 1, nad 93 %) a veľmi nízke hodnoty relatívneho počtu cirkulujúcich lymfocytov (vzorky 0 a 1, menej ako 4,3 % z celkového počtu leukocytov).

Na základe klinicko-laboratórneho pozorovania u 90 onkologických pacientov v intenzívnej starostlivosti predpokladáme nasledovné predbežné závery: diferenciálny krvný obraz bielych krviniek je jednoduchá, dostupná a spoľahlivá metóda sledovania závažnosti chirurgického výkonu, septického syndrómu alebo iného kritického stavu. Významnú neutrofiliu a lymfocytopeniu sme pozorovali aj po ťažkom infarkte myokardu a dlhotrvajúcej resuscitácii (Záhorec, 2000), po ťažkej akútnej pankreatitíde aj po závažnej polytraume (obr. 3, 4, 5). Zistili sme, že zlepšovanie klinického stavu je spojené s poklesom počtu neutrofilov (pod 80 %) a vzostupom počtu lymfocytov (nad 10—15 %) po 3—5 dňoch. Miera poklesu lymfocytov a doba trvania lymfocytopenie zrejme závisí od závažnosti primárneho inzultu a od schopnosti imunitného systému. Perzistujúca neutrofilia (nad 85—90 %) a pretrvávajúca lymfocytopenia (pod 5 %) viac ako 5 dní svedčia o závažnosti kritického stavu a hroziacich komplikáciách pre pacienta. Z 90 pacientov sme len u jedného pacienta zo skupiny A nepozorovali lymfocytopeniu. Pacient s inoperabilným nádorom hlavy pankreasu mal relatívne hodnoty lymfocytov nad 30 % (absolútne počty 2,5—3,6—4,7 tisíce lymfocytov/mm<sup>3</sup>) v celom pooperačnom období a ako jediný zo skupiny A exitoval na 6. pooperačný deň.

## Diskusia

Podnetom k uskutočneniu pilotnej pozorovacej štúdie bol klinický experiment humánnej endotoxémie, keď po vnútrožilovom vpravení lipopolysaccharidu do obehu dobrovoľníkov došlo už po 2—3 hodinách k zmenám v krvnom obraze bielych krviniek: k zreteľnej neutrofilii a signifikantnej lymfocytopenii, ktoré vrcholili medzi 4. až 8. hodinou (Gilma a spol., 1999). Charakteristické zmeny populácií bielych krviniek po ťažkej traume opísali traumatológovia už pred 20 rokmi, ale až v posledných rokoch sa nález neutrofilie a perzistujúcej lymfocytopenie spája s rozvojom systémovej zápalovej odpovede (SIRS) a multiorgánovej dysfunkcie (Menges a spol., 1999). Viacerí odborníci v intenzívnej medicíne skúmajú,

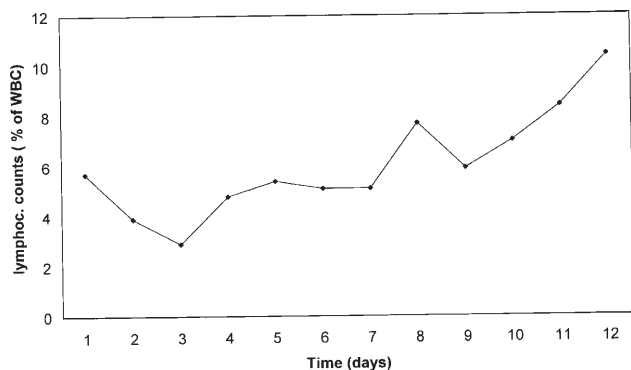


Fig. 4. Serial changes in lymphocyte relative counts (% of all WBC) in a patient during acute pancreatitis. The improvement of his clinical status is linked with an increase in lymphocyte counts (see ICU days 9.—12.).

Obr. 4. Časový priebeh zmien relatívneho počtu lymfocytov (v % z celkového počtu leukocytov) u pacienta s akútnou pankreatitídou. Zlepšovanie klinického stavu bolo spojené so vzostupom počtu lymfocytov (pozri dni 9.—12. vzostup populácie cirkulujúcich lymfocytov zo 6 % na 11 %).

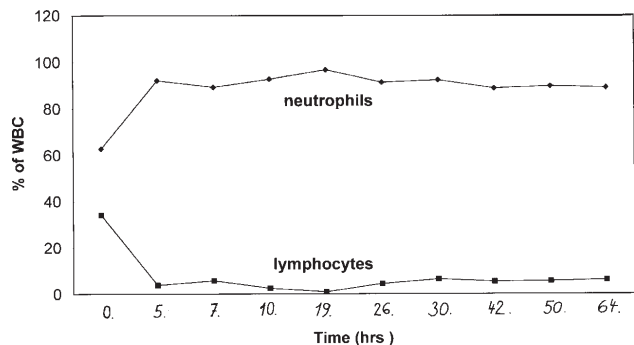


Fig. 5. Time course of dynamic changes in neutrophil and lymphocyte relative counts in patients following multiple trauma in hours.

Obr. 5. Časový priebeh dynamických zmien relatívneho počtu neutrofilov a lymfocytov u pacientky po ťažkej polytraume v hodinách od udalosti.

Although characteristic changes in white blood cell populations following severe trauma have been described 20 years ago, the clinicians have only recently found out the possible linkage between sustained lymphocytopenia, immunoparalysis after stressful events, and the development of systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and multiple organ dysfunction syndrome (Menges et al., 1999). Many intensivists call in a question as to whether the dynamic changes in differential white blood cell counts may have any prognostic value (Rainer et al., 1999).

The prospective clinical and laboratory study of 90 ICU patients has clearly demonstrated the response of circulating white blood cells to surgical stress, severe infection, systemic inflammation and septic shock, manifested by marked neutrophilia and lymphocytopenia, developing within 4—8 hours following the insult (see Fig. 3 and 5).

The key role of immunocompetent white blood cells in immune response may be played by the lymphocyte population. Lymphocyte populations (T- and B-lymphocytes) are responsible for the linkage between innate and acquired immunity, and between cellular and humoral immune responses to stressful events (Sterzl, 1988).

Lymphocytes have many receptors on their cell membranes: alpha- and beta-adrenoceptors, dopamine, histamine, cholinergic and kinin receptors. A very important role in the regulation of inflammatory response is played by cytokine and chemokine receptors. Lymphocyte populations are very sensitive to neuroendocrine hormones as adrenaline, noradrenaline, histamine, cortisol and prolactin (Sterzl, 1988; Dionigi et al., 1994).

#### The causes and consequences of lymphocytopenia

Lymphocytopenia can be induced by high serum concentration of catecholamines, prolactin, and cortisol which are released into circulation during major surgery (Dionigi et al., 1994). Lymphocytopenia is caused also by margination of lymphocytes within the reticulo/endothelial system, liver and splanchnic lymphatic system (Ayala et al., 1996). The develop-

ment of differential white blood cell counts after multiple trauma may have a prognostic value (Rainer et al., 1999).

Stimulovaní uvedenými prácami sme uskutočnili pilotnú štúdiu u 90 onkologických pacientov, ktorá okrem jedného prípadu, potvrdila typický vzostup počtu leukocytov — zvlášť populácie cirkulujúcich neutrofilov a pokles počtu lymfocytov po chirurgickom výkone, ale aj pri peritonitíde, brušnej sepe, septickom syndróme, akútnej pankreatitíde a polytraume (obr. 4 a 5). Kľúčové postavenie v imunitnej odpovedi cirkulujúcich populácií bielych krviniek má populácia lymfocytov. Monografia akademika Šterzla poskytuje mnoho cenných informácií o vlastnostiach a bohatej receptorovej výbave lymfocytov (Šterzl, 1988). Lymfocyt má na svojej membráne alfa-, beta-adrenoreceptory, dopamínové, cholinergické a histamínové receptory, receptory pre neuropetidy, kinínový systém, cytokíny a chemokíny. Lymfocytová populácia veľmi citlivo reaguje na stres (prolaktín, katecholamíny a kortizol), na významné zmeny neuroendokrinnej regulácie a homeostázy.

#### Ďalšie príčiny a aké dôsledky lymfocytopenie?

Lymfocytopenia môže byť reakciou na vysoké hladiny katecholamínov, prolaktínu a kortizolu, ktoré sa vyplavujú do cirkulácie počas chirurgického výkonu, ako dokázal Dionigi (1994). Inou možnosťou je marginácia, resp. redistribúcia lymfocytov v retikuloendotelovom systéme sleziny a pečene, v lymfatickom systéme alebo inde v tkanivách napr. v epiteli čreva. Treťou možnosťou je skrátenie doby života lymfocytov mechanizmom programovanej, geneticky riadenej smrti bunky — apoptózy. Zvýšenie frekvencie apoptózy lymfocytov pri sepe potvrdili najprv v experimentoch na zvieratách (Ayala a spol., 1996; Mahidhara a Billiar, 2000). V klinike akcelerovanú apoptózu lymfocytov najmä v slezine a lymfatickom systéme a epiteli čreva rýchlou histológiou — metódou TUNEL dokázala skupina dr. Hotchkissa (1999). Naopak neutrofilia vzniká demargináciou neutrofilných granulocytov, t.j. ich odlepením z endotelu ciev, pôsobením cytokínov a chemokínov, predĺžením doby života



**Tab. 6. Inflammatory/immune response of circulating white blood cells, expressed as a Neutrophil-lymphocyte stress factor (NLSF), which is neutrophil-lymphocyte ratio.****Tab. 6. Návrh miery intenzity zápalu a stresu na relatívny počet neutrofilov a lymfocytov. NLSF — neutrofil-lymfocytový stresový faktor je pomer neutrofilov k lymfocytom vyjadrených v % z počtu leukocytov.**

Differential white blood cell count (% relation of neutrophil/lymphocyte count), measured on blood cell counter SYSMEX SF 3000

Inflam/stress	Physiologic	Stress	Supraphysiolog.	Stress
Parameter	1-mild	2-moderate	3-severe	4-critical
Neutrophil %	78-84,9%	85-89,9%	90-94,9%	95 and higher %
Lymphoc. %	10,1-15%	5,1-10,0%	2,6-5,0%	2,5 and less %
NLSF	5,5-8,4	8,5-17,9	18-36	36 and higher

Vysvetlenie v texte

ment of lymphocytopenia is caused also by the genetically regulated cell death — apoptosis. The accelerated programmed cell death — apoptosis of lymphocytes during sepsis was observed by many authors (Ayala et al., 1996; Hotchkiss et al., 1999, 2000). Hotchkiss et al. (1999) demonstrated the accelerated apoptosis in lymphocytes and gut epithelial cells following clinical sepsis by using rapid histology TUNEL method for early detection of apoptotic cells.

However on the contrary, the onset of neutrophilia is caused by the demargination of neutrophils from endothelium, by the delay of neutrophil apoptosis, and by the action of growing factors on stem cells (Mahidhara and Billiar, 2000).

The sustained lymphocytopenia is responsible for the depression in cellular immunity. Flow cytometric assay revealed that the marked decrease in T4-helper lymphocytes following multiple trauma is responsible for the development of SIRS and MODS in critically ill patients (Menges et al., 1999).

The physiologic immune response of circulating white blood cells to various stressful events as tissue injury, severe trauma, major surgery, burns, sepsis syndrome, is characterized by elevation of neutrophils and decline in lymphocyte counts. The development of neutrophilia and lymphocytopenia is caused and maintained by many factors (Sterzl, 1988). Lymphocytopenia is induced by the following factors: hormones, cytokines and chemokines which regulate the number and function of the whole lymphocyte population. Lymphocytopenia reflects the strength and intensity of the stressful event, as well as the resistance and adaptability of the immune system.

In our analysis of serial changes of neutrophil and lymphocyte counts correlated with the clinical status and outcome of 90 ICU oncological patients, we suggest 4 grades of immune stress response of circulating white blood cell populations (Tab. 6).

The inflammatory/immune response to stress can be effectively characterized by the ratio of relative neutrophil counts (in %) to relative lymphocyte counts (in %). We refer to this ratio as *neutrophil/lymphocyte stress factor (NLSF)*. Under physiologic conditions, the neutrophil/lymphocyte stress factor is less than 5, e.g. normal values of neutrophils are less than 75 % and relative counts of lymphocytes are higher than 15 %, thus the NLSF ratio of neutrophils to lymphocytes is 75:15=5.

Under pathologic conditions as severe infection or systemic inflammation, the neutrophil/lymphocyte stress factor is increased to higher values than 6: during neutrophilia of 84 % of WBC and lymphocytopenia of 14 %, NLSF is 84:14=6.

a spomalením — oddialením apoptózy neutrofilov (Mahidhara a Billiar, 2000). Perzistujúca lymfocytopenia predstavuje depresiú bunkovej imunity, pretože dochádza k poklesu počtu najmä T4 (alebo CD4+) pomocných lymfocytov (Menges a spol., 1999), čím sa môže zúčastňovať na vzniku SIRS a multiorgánovej dysfunkcie (MODS).

Možno potvrdiť, že *neutrofilia a lymfocytopenia* predstavujú prirodzenú fyziologickú odpoveď (cirkulujúcich bielych krviniek) imunitného systému na stres, poranenie, úraz, chirurgický výkon a systémový zápal a sepsu. Neutrofiliiu a lymfocytopeniu vyvolávajú a udržiavajú viaceré od seba i nezávislé fyziologické mechanizmy. Lymfocytopenia je prejav miery intenzity vonkajšieho inzulitu a vnútorného pôsobenia viacerých efektorových systémov: neuroendokrinného, cytokínového, t.j. imunitného systému! Lymfocytopenia odráža mieru a intenzitu stresu, ako aj odolnosť, adaptabilitu a pohotovosť imunitného a neuroendokrinného systému. Dionigi (1994) zistil pokles počtu lymfocytov pri laparoskopickej cholecystektómii významne menší ako pri otvorenej cholecystektómii. Naopak rovnaké výkony, napr. rovnaký typ resekcie a anastomózy čreva, sa u rôznych pacientov vyznačovali rôzne významnou lymfocytopeniou. Nekomplikovaný pooperačný priebeh a rýchle zotavenie z operačného výkonu boli spojené s rýchlym vzostupom počtu lymfocytov.

Na základe analýzy dynamiky neutrofilie a lymfocytopenie u nekomplikovaných pacientov (skupina A — 62 pacientov) a u komplikovaných pacientov (skupina B a C, spolu 28 pacientov) navrhujeme 4 stupne miery závažnosti stresovej/zápalovej odpovede cirkulujúcich populácií bielych krviniek (tab. 6). Imunitnú odpoveď periférnych bielych krviniek na zápal a stres dobre charakterizuje pomer relatívneho počtu neutrofilov (v %) k relatívnemu počtu lymfocytov (%). Za normálnych fyziologických podmienok je pomer neutrofilov k lymfocytom menší ako 5! Napr. ak je z celkového počtu bielych krviniek 75 % neutrofilov a 15 % lymfocytov, sa *neutrofil-lymfocytový pomer* rovná 5. Za patologických stavov neutrofil-lymfocytový pomer stúpa nad 6 (napr. pri pomere 84 % neutrofilov a 14 % lymfocytov platí 84:14=6). Čím je stav kritickejší, tým je neutrofil-lymfocytový pomer vyšší (tab. 6), čo dobre korešpondovalo so SOFA a APACHE II skóre kritických stavov (tab. 3).

Veľmi dôležité je časovanie (timing) odberov krvi na vyšetrenie diferencovaného obrazu bielych krviniek. Na základe experimentálne overenej dynamiky neutrofilie a lymfocytopenie po endotoxémii (Jilma a spol., 1999) treba vyšetřovať diferencovaný krvný obraz ihneď po prijme a neskôr po 6 a 12 hodinách. Ďalšie vyšetřenia diferencovaného obrazu bielych krviniek stačí robiť na dennej báze, t.j. raz za 24 hodín. Dynamika absolútneho i relatívneho počtu neutrofilov

The severity of insult, severity of clinical status and clinical outcome, according to APACHE II and SOFA scores (Tab. 3), correlate well with NLSF and intensity of neutrophilia and the lymphocytopenia (Tab. 6).

NLSF can be used as a simple laboratory hematological parameter for the evaluation of the clinical status following sepsis, systemic inflammation and critical illness. The timing of blood sampling for differential white blood cell examination by means of cell counter is very important. To our best knowledge (Jilma et al., 1999; Rainer et al., 1999) the differential white blood cell count should be investigated immediately after ICU admittance, then after 6, 12 and 24 hours. Further examinations of total WBC, neutrophil and lymphocyte counts can be done on a routine daily basis. Serial changes in absolute and/or relative (%) counts of WBC populations provide valuable information about the cellular immune response to insults in critically ill patients.

The relation of neutrophils to lymphocytes expressed as a ratio of Neutrophil to Lymphocyte counts referred to as NLSF, is a reliable parameter for the monitoring and evaluation of the systemic inflammatory response. The preliminary observation shows that NLSF may have a good prognostic value in the clinical outcome.

In case of the leukopenia relative % counts cannot be used, the absolute counts of lymphocytes have to be used (less than 400/mm<sup>3</sup>, or less than 200/mm<sup>3</sup>).

## Conclusion

Recent knowledge in pathobiology, pathophysiology and biochemistry of experimental sepsis, including the biology of cytokines, immunogenetics of adhesion molecules, the cooperation of monocytes, lymphocytes and neutrophils in inflammatory response, the phenomenon of apoptosis and de novo synthesis of inflammatory markers as procalcitonin, neopterin and acute phase proteins, lead to the new approach in monitoring and evaluation of the systemic infection, inflammation and sepsis syndrome. However, the investigation of cytokines, adhesion molecules, CD examination of neutrophils and lymphocytes by means of flow cytometric assay are not available for the majority of ICU departments.

On the set of 90 patients, we demonstrated that the investigation of differential white blood cell counts, especially neutrophil and lymphocyte counts, by means of automatic cell counter (SYSMEX SF 3000) is a simple, sensitive and reliable laboratory method which can reflect the intensity of stress, strength of systemic inflammation and adaptability of innate immune response.

Neutrophilia and lymphocytopenia are typical phenomena of the innate immune response to various stressful insults. Relation of neutrophils and lymphocytes during the development of systemic inflammatory response expressed as NLSF (ratio of neutrophils to lymphocyte counts in absolute or relative values) is a simple, rapid and reliable method of how to evaluate the extent of stress or systemic inflammation. NLSF can be used routinely in daily clinical practice of intensive medicine.

a lymfocytov poskytuje cenné informácie o priaznivej, resp. nepriaznivej odpovedi kritického pacienta na liečbu, a tým i na jeho prognózu.

## Záver

V období obrovského pokroku v poznávaní patobiológie a patofyziológie sepsy a multiorgánového zlyhania zostávajú vyšetrenia cytokínov (TNF-alfa, IL-1, IL-6) a imunologické vyšetrenia receptorov lymfocytov prietokovou cytometriou z technologických a ekonomických dôvodov pre väčšinu pracovísk ARO nedostupné. Na súbore 90 pacientov sme dokázali, že vyšetrenie diferencovaného obrazu bielych krviniek automatickým krvným analyzátorom (u nás SYSMEX 3000 SF) môže byť rutinnou, jednoduchou a pre všetkých lekárov v intenzívnej medicíne ľahko dostupnou laboratórnou diagnostickou metódou sledovania miery stresu a imunitnej odpovede na liečbu v kritických stavoch. Neutrofilia a lymfocytopenia sú prirodzenou fyziologickou odpoveďou imunitného systému organizmu na stres rôzneho druhu, systémový zápal a sepsu. Pomer neutrofilov a lymfocytov (neutrofil-lymfocytový pomer) je jednoduchou a spoľahlivou metódou sledovania odpovedi imunitného systému na závažné až kritické stavy v intenzívnej medicíne.

## References

- Ayala A., Herndon C., Lehman D. et al.:** Differential induction of apoptosis in lymphoid tissue during sepsis: Variation in onset, frequency and nature of the mediators. *Blood*, 87, 1996, s. 4261–4275.
- Dionigi R., Dominioni L., Benevento A., Giudice G. et al.:** Effects of Surgical Trauma of Laparoscopic vs. Open Cholecystectomy. *Hepato-Gastroenterology*, 41, 1994, s. 471–476.
- Hotchkiss R.S., Swanson P.E., Freeman B.D. et al.:** Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock and multiple organ dysfunction. *Crit. Care Med.*, 27, 1999, s. 1230–1251.
- Jilma B., Blann A., Pernerstorfer T., Stohlawetz P. et al.:** Regulation of adhesion molecules during human endotoxaemia. *Amer. J. Resp. Crit. Care Med.*, 159, 1999, s. 857–863.
- Mahidhara R., Billiar R.T.:** Apoptosis in sepsis. *Crit. Care Med.*, 28, 2000, Suppl. 4, s. N105–N113.
- Menges T., Engel J., Welters I., Wagner R.M. et al.:** Changes in blood lymphocyte populations after multiple trauma. *Crit. Care Med.*, 27, 1999, s. 733–740.
- O'Mahony J.B., Palder S.B., Wood J. et al.:** Depression of cellular immunity after multiple trauma in the absence of sepsis. *J. Trauma*, 24, 1984, s. 869–875.
- Rainer T.H., Chan T.Y.F., Cocks R.A.:** Do peripheral blood counts have any prognostic value following trauma? *Injury*, 30, 1999, s. 179–185.
- Setvák D., Záhorec R., Mišianik J.:** Využitie procalcitonínu v pooperačnej a intenzívnej starostlivosti. *Anesteziol. neodklad. péče*, 11, 2000, s. 165–169.
- Sterzl J.:** Vývoj a indukce imunitní odpovědi. Praha, Academia 1988, 460 s.
- Záhorec R., Blaskova A., Setvak D.:** Lymphocytopenia and hyperprocalcitonemia after cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation*, 45, 2000, S20. p 75.
- Záhorec R., Setvak D., Misianik J., Kausitz J.:** Serum neopterin levels of oncological patients in intensive care. *Bratisl. Med. J.*, 101, 2000, s. 557–562.

Received December 6, 2000.

Accepted January 5, 2001.